

ارزیابی اعتبار آرایه‌شناختی کلادهای مولکولی طایفه Arvicolini (پستانداران)

احمد محمودی^۱، جمشید درویش^{۱*} و منصور علی‌آبادیان^۲
^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
^۲ گروه پژوهشی جوئنده‌شناسی، مرکز جانورشناسی کاربردی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
^۳ گروه پژوهشی نوآوری‌های زیستی جانوری، مرکز جانورشناسی کاربردی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

برداشت‌های متفاوتی از مفهوم گونه وجود دارد که تأثیر مستقیمی بر معرفی گونه‌های جانوری جدید و بازنگری گونه‌های ریختی موجود می‌گذارد. بر اساس بررسی‌های انجام شده تاکنون ۶۵ گونه ریختی از طایفه Arvicolini (ول‌ها) شناسایی شده است. لیکن مطالعات مولکولی نشان می‌دهد که برخی از این ریخت‌گونه‌ها فاقد اعتبار آرایه‌شناختی هستند و برخی دیگر باید به چند گونه تقسیم شوند. در مطالعه حاضر، ۳۸ گونه ریختی از جنس *Microtus* یکی از بزرگ‌ترین جنس‌های این طایفه که در نیمکره شمالی انتشار دارند با استفاده از ۸۲۳ توالی میتوکندریایی ژن سیتوکروم b (به طول ۱۱۴۰ جفت نوکلئوتید) بررسی شد. در این بررسی فواصل ژنتیکی درون گونه‌ای و بین گونه‌ای محاسبه شد و آنالیز تخمین هاپلو تیپ روی مجموعه داده‌ها انجام شد. درخت تبارزادی حاصل از مطالعه هاپلو تیپ‌های مربوط به ۳۸ گونه ریختی با استفاده از آنالیز بیشترین نشان می‌دهد که ۶۴ شبکه هاپلو تیپی درون این مجموعه داده وجود دارد که می‌تواند مؤید اعتبار برخی از ریخت‌گونه‌های شناخته شده و همچنین وجود گونه‌های ناشناخته‌ای باشد که به رویکردی تلفیقی از مفهوم گونه کمک کند.

واژه‌های کلیدی: طایفه ول‌ها (Arvicolini tribe)، گونه نهران، گونه ریختی، گونه ژنتیکی، هاپلو تیپ

مقدمه

کرد که نتایج آنها معرف گروه‌های ژنتیکی متعدد درون گونه‌های ریختی پستانداران بود. طایفه ول‌ها (Arvicolini Gray, 1821) با ۱۴ جنس و ۶۵ گونه شناخته شده از متنوع‌ترین پستانداران نیمکره شمالی جهان است (Musser and Carleton, 2005). امروزه پژوهشگران در مطالعاتشان علاوه بر مفهوم زیستی گونه به مفهوم گونه ژنتیکی نیز اشاره می‌کنند؛ مفهوم زیستی و

نتایج مطالعات مولکولی اعم از بررسی‌های پروتئینی، آنزیمی و توالی‌یابی ژن‌های هسته‌ای و میتوکندریایی نشان می‌دهد که به بازنگری آرایه‌های گونه‌ای و زیرگونه‌ای تعریف شده بر اساس مطالعات ریختی کمک شایانی می‌کنند. از جمله این مطالعات می‌توان به تحقیقات مولکولی Baker و Bradley (۲۰۰۶) اشاره

Cytb) b، ضمن بررسی روابط تبارزایی جنس‌ها، اعتبار ریخت گونه‌ها مورد آزمون قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر، ۸۲۳ توالی از ژن *Cytb* به طول ۱۱۴۰ جفت نوکلئوتید مربوط به ۳۸ گونه از طایفه ول‌ها در نیمکره شمالی، با استفاده از داده‌های بانک ژنی برای شناسایی هاپلوتیپ‌ها و با استفاده از نرم‌افزارهای DnaSP (Librado and Rozas, 2009) و TCS (Clement *et al.*, 2000) مطالعه شد. فواصل ژنتیکی درون و بین گروهی گونه‌های ریختی مورد مطالعه با استفاده از برنامه نرم افزاری ExCaliBAR (Aliabadian *et al.*, 2014) و فواصل درون و بین گروهی شبکه‌های هاپلوتیپی، با استفاده از نرم‌افزار Mega5 (Tamura *et al.*, 2011) محاسبه شدند و گراف حاصل در برنامه Excel نسخه ۲۰۰۷ ترسیم شد. درخت فیلوژنتیکی بیژین (Bayesian) هاپلوتیپ‌ها با نرم‌افزار MrBayes نسخه ۳/۱/۲ (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) برای گونه‌ها و گروه گونه‌ها ترسیم گردید- اصطلاح گروه گونه به گونه‌هایی اطلاق می‌شود که به دلایل متعدد، تفاوت‌های مورفولوژیکی بسیار مشخصی نسبت به یکدیگر نشان نمی‌دهند و یک اصطلاح غیر رسمی در تاکسونومی است (Mayr, 1942) که برای ول‌ها به طور متداول در منابع به کار برده می‌شود (Musser and Carleton, 2005) و در درک گروه‌بندی‌های این زیرخانواده بسیار سودمند است. برای بهتر نشان دادن واگرایی بین گروه‌های داخلی، گروه‌های خارجی از درخت حذف شدند.

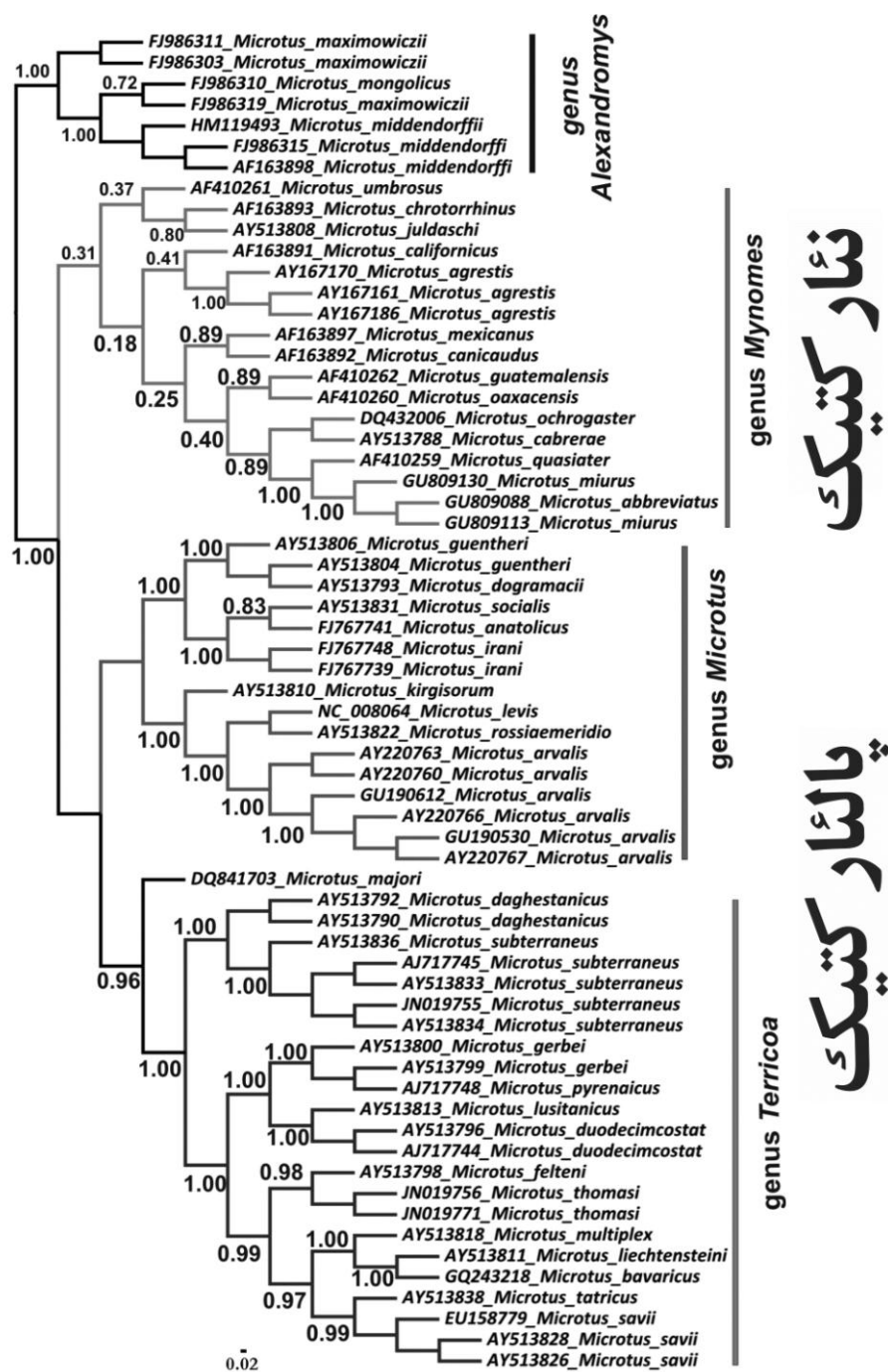
ژنتیکی گونه دو دیدگاه متفاوت با مبانی نظری متفاوت هستند (Bradley and Baker, 2001). گونه ژنتیکی به عنوان گروهی از جمعیت‌های طبیعی تعریف می‌شود که با وجود درون‌زادآوری، از نظر تبادل ژنتیکی از گروه‌های خویشاوند جدا شده و به صورت کلادی دارای جدایی ژنتیکی قابل قبول و گنجینه ژنتیکی متفاوت می‌شود و تاریخچه تکاملی مستقلی دارد. تأکید بر جدایی ژنتیکی و نه جدایی تولید مثلی، بیانگر مهم‌ترین تفاوت مفهوم گونه ژنتیکی نسبت به گونه زیستی است (Baker and Bradley, 2006). همین مسأله در مورد برخی گونه‌های ول‌ها صادق است، مطالعات اخیر نشان می‌دهند که گونه‌های: (*Microtus agrestis* (Jaarola and Searle, 2004)، (*M. arvalis* Fink *et al.*, Haynes *et al.*, 2003)، (*M. longicaudus* (Buzan *et al.*, 2010؛ 2004)، (*M. oeconomus* (Conroy and Cook, 2000) و (*M. oeconomus* Galbreath and Cook, Brunhoff *et al.*, 2003) (2004 تفاوت‌های آنزیمی، هاپلوگروه‌های میتوکندریایی مجزا و چند ریختی کروموزومی درون گونه‌ای دارند (Modi, 1987) که به مشکلات آرایه‌شناختی فراوانی در مورد حدود گونه زیستی و اعتبار گونه‌های ریختی توصیف شده در این گروه از چونندگان منجر شده است. متأسفانه با وجود مطالعات متعدد در مورد تبارزایی جنس‌ها و گروه گونه‌های پیشنهادی در مطالعات پراکنده و جدا از هم، تاکنون مطالعه جامعی در مورد ارزیابی اعتبار ریخت گونه‌های معرفی شده، در مقایسه با کلادهای مولکولی در این طایفه انجام نشده است. بنابراین، در مطالعه حاضر سعی شده است تا با استفاده از نشانگر مولکولی ژن سیتوکروم

نتایج

درخت حاصل از تحلیل بیژین (شکل ۱)، دربرگیرنده دو گروه اصلی برای داده‌های مطالعه شده ول‌ها است؛ گروه اول متعلق به گونه‌های ناحیه پالتارکتیک (شامل دو زیرجنس *Microtus* و *Terricola*) و گروه دوم (زیرجنس *Mynomys*) شامل گونه‌های ناحیه نئارکتیک است و زیرجنس *Alexandromys* در قاعده درخت قرار می‌گیرد. زیرجنس *Microtus* شامل سه گروه گونه شناخته شده *socialis*، *arvalis* و *guentheri* است. زیرجنس *Terricola* شامل دو گروه گونه تک‌نیا است که یکی از دو گروه شامل گونه‌های *Microtus (T)*، *subterraneus* و *Microtus (T)*، *daghestanicus* است و گروه دیگر شامل گونه‌های بوم‌زاد اروپا است. زیرجنس *Terricola* شامل گونه‌هایی است که دارای کمترین فاصله ژنتیکی بین گونه‌ای (≥ 2 درصد) است: از جمله می‌توان به گونه‌های خواهری ذیل اشاره کرد: *Microtus (T)*، *Microtus (T)*، *lusitanicus* - *Microtus (T)*، *duodecemicostatus* و *Microtus (T)*، *bavaricus* - *Microtus (T)*، *liechtensteini* فاصله ژنتیکی بین گونه‌ای بر اساس مدل کیمورا-۲ برای گونه‌های ریختی تعریف شده محاسبه شد که در محدوده ۲-۲۰ درصد قرار داشت، فواصل درون گونه‌ای برای این گونه‌ها بین ۰-۷ درصد محاسبه شد (شکل ۲). بالاترین میزان فاصله ژنتیکی درون گونه‌ای در گونه‌های ریختی بررسی شده در این مطالعه مربوط به گونه‌های *Microtus (A)*، *maximowiczii* (با ۷ درصد) و *Microtus (T)*، *savii* و *Microtus (T)*، *subterraneus* (با ۴ درصد) است.

در تحلیل شبکه هاپلوتیپی مشخص شد که گونه *Microtus (A)*، *maximowiczii* متشکل از سه شبکه هاپلوتیپی است که فواصل بین آنها برابر با ۱۰/۴-۱۱/۲ درصد بود، گونه ریختی *T. savii* شامل سه شبکه هاپلوتیپی است که فواصل ژنتیکی بین آنها در حدود ۴/۷-۷/۶ درصد است. گونه *T. subterraneus* پنج شبکه هاپلوتیپی تشکیل می‌دهد که فواصل بین آنها برابر با ۲/۹-۵/۹ درصد است. توالی‌های *T. daghestanicus* با داشتن فاصله درون گونه‌ای ۳ درصد، دو شبکه هاپلوتیپی را تشکیل می‌دهند که فاصله بین آنها برابر با ۳/۹ درصد است. فواصل ژنتیکی بین گونه‌های ریختی *M. miurus*-*M. abbreviates*، *T. lusitanicus* - *T. bavaricus*-*T. liechtensteini*، *T. duodecemicostatus* برابر با ۲ درصد است که معادل کمترین مقدار فاصله محاسبه شده - و برابر با فاصله ژنتیکی بین شبکه‌های هاپلوتیپی (گروه‌های فیلوژنتیکی) - است.

در نهایت، از تعداد ۸۲۳ توالی مربوط به ۳۸ گونه، ۶۴ شبکه هاپلوتیپی شناسایی شد. گونه *T. pyrenaicus* در داخل شبکه هاپلوتیپی گونه *T. gerbei* قرار گرفت، همچنین تعدادی از توالی‌های مربوط به گونه‌های *M. abbreviatus* و *M. miurus* به دلیل فاصله ژنتیکی بسیار اندک در داخل یک شبکه هاپلوتیپی قرار گرفتند. به طور کلی، فواصل ژنتیکی بین شبکه‌های هاپلوتیپی و اختلافات ژنتیکی بین گونه‌های ریختی (۲-۲۰ درصد) و همچنین اختلاف ژنتیکی درون شبکه‌های هاپلوتیپی، با کمترین اختلاف ژنتیکی بین گونه‌های ریختی بر هم منطبق هستند (≥ 2 درصد).



شکل ۱- درخت بیژین ۶۴ هاپلوتیپ متعلق به ۳۸ گونه ریختی ول‌های مطالعه شده، بر اساس توالی‌های ژن *Cytb* ترسیم شده است. اعداد پشت هر گره نشان دهنده مقادیر احتمال پسین (posterior probability) است.

بحث

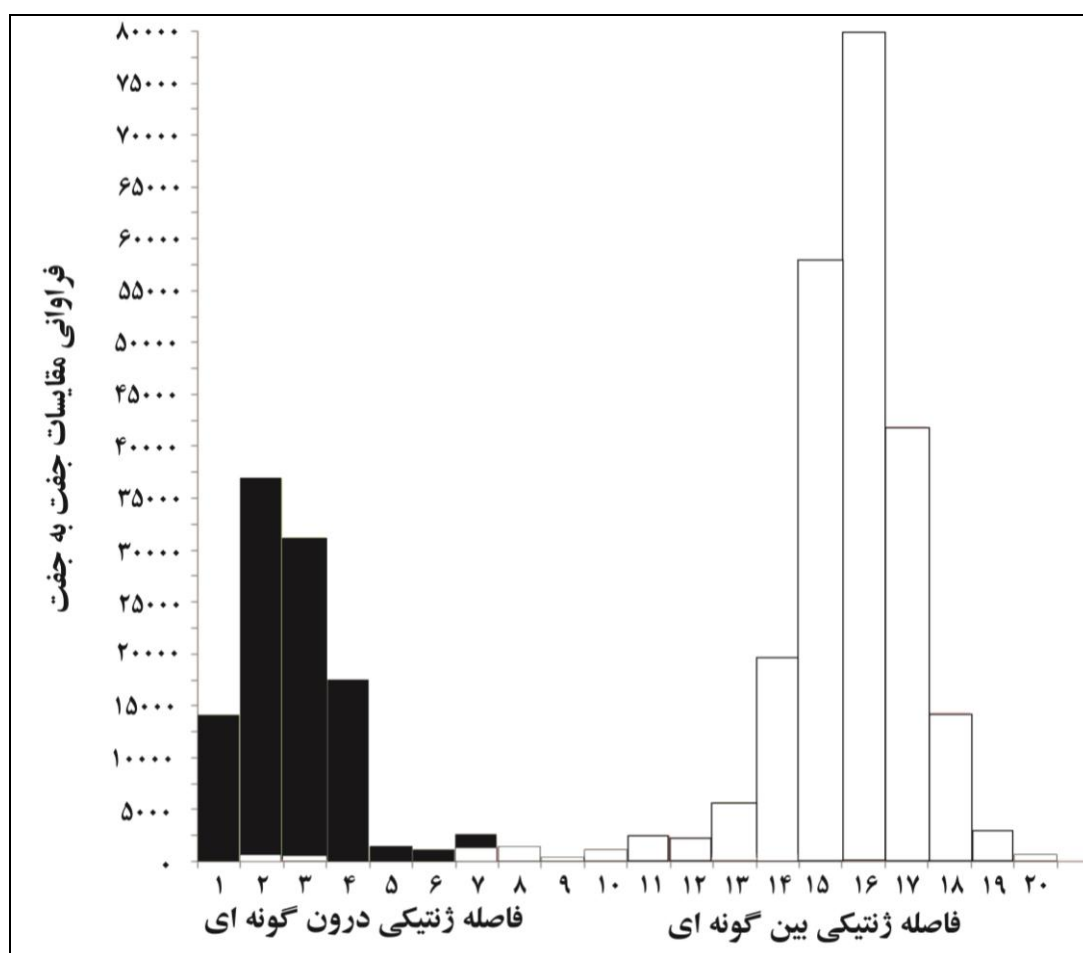
امکان پذیر است، زیرا بررسی ویژگی‌های دندانی و مجموعه‌ای، تغییرات درون گونه‌ای و میزان همگرایی سازشی بالایی را در بسیاری از گونه‌های همزاد نشان

بازسازی روابط تکاملی طایفه ول‌ها بر اساس صفات ریختی، فقط برای تعداد محدودی از نمونه‌ها

توالی‌یابی ژن‌ها در اواسط دهه ۱۹۸۰، به ایجاد مجموعه داده‌های ژنتیکی بسیار غنی منجر شده است و احتمال تشخیص گونه‌های ناشناخته را افزایش داده است.

Baker و Bradley (۲۰۰۱) با مطالعه ۱۸ گونه جونده، میانگین فاصله ژنتیکی بین گونه‌ای را برای گونه‌های پستانداران ۲/۴۹ درصد پیشنهاد کردند و فاصله ژنتیکی کمتر از عدد ۲ درصد را نشان دهنده تغییرات درون گونه‌ای عنوان کردند.

داده است (Martinkova et al., 2007). یکی از نتایج محتمل تکامل بسیار سریع در ژنوم تاکسون‌هایی نظیر طایفه ول‌ها، عدم وجود تغییرات ریختی است؛ عنوان شده است که این گروه از جوندگان دارای بالاترین نرخ تکامل ژن میتوکندریایی در بین پستانداران هستند (Triant and De Woody, 2008). اطلاعاتی از قبیل داده‌های آلوزیمی ژل نشاسته (Hubby and Lewontin, 1966؛ Lewontin, 1966)، کاریوتیپ (Patton, 1967؛ Hsu, 1979) و به ویژه



شکل ۲- بارکد گپ فواصل درون گونه‌ای و بین گونه‌ای در گونه‌های ریختی ول‌ها بر اساس ژن *Cytb*. همپوشانی فواصل ژنتیکی درون گونه‌ای و بین گونه‌ای در شکل مشخص است. ۴ عدد از گونه‌های ریختی بررسی شده (۱۰/۵ درصد) تغییرات بین گونه‌ای پایین‌تر از عدد ۴/۲ درصد و در مقابل ۳ عدد از گونه‌ها (۷/۹ درصد) تغییرات درون گونه‌ای بالاتر از ۴/۲ درصد را نشان می‌دهند.

درون یک شبکه واحد قرار می‌گیرند که از جمله می‌توان دو گونه ریختی *M. abbreviates* و *M. miurus* را نام برد، این امر می‌تواند بیانگر تبادل ژنتیکی بین این گونه‌ها باشد؛ از این رو، لزوم بازبینی مجدد ماهیت چنین تاکسون‌هایی کاملاً ضروری است.

بر اساس آرایش درخت بیژین و فواصل ژنتیکی محاسبه شده بین گونه‌ها، به نظر می‌رسد که جدیدترین گونه زایی‌ها همچنان که پیشتر توسط Jaarola و همکاران (۲۰۱۰) و Kryštufek (۲۰۰۴) و همکاران (۲۰۱۰) عنوان شده است در گونه‌های پالئارکتیک و در زیرجنس *Terricola* رخ داده است. تا جایی که برخی از گونه‌های این زیرجنس، کمترین فاصله ژنتیکی بین گونه‌ای (یک درصد) را در بین گونه‌های مطالعه شده دارا هستند، همانند گونه‌های خواهری *Microtus (T). Microtus (T). duodecimcostatus-lusitanicus* و *Microtus (T). -Microtus (T). bavaricus* و *Microtus (T). liechtensteini* که تنها بر اساس مطالعات دورگ‌گیری به عنوان گونه‌های معتبر شناخته شده‌اند (Jaarola et al., 2004).

یکسان بودن محدوده فواصل ژنتیکی بین گونه‌های ریختی و هاپلوטיפ‌ها نشان دهنده این موضوع است که این جمعیت‌های ژنتیکی مجزا و گونه‌های ریختی که دارای چنین هاپلوטיפ‌هایی هستند نیازمند بازبینی و تصمیم‌گیری آرایه‌شناختی مجدد در سطح گونه هستند. در گونه‌های طایفه ول‌ها به دفعات با گونه‌های ریختی مواجه هستیم که اختلافات ژنتیکی و ریختی آنها بر هم منطبق نیستند؛ گونه *M. qazvinensis* بر اساس مطالعات دورگ‌گیری و کاربولوجی از شمال غرب ایران (استان قزوین) گزارش شده است (Golenishchev et al., 2003)، این گونه متعلق به گروه گونه 'guentheri'

به نظر می‌رسد پراکنش کنونی ول‌ها در نیمکره شمالی نتیجه سه رویداد مهاجرت مستقل، از آسیای جنوب شرقی به عنوان خاستگاه فرضی آنها (Chaline Fink; Musser and Carleton, 2005; et al., 1999; et al., 2010) به سمت شمال آمریکا، اروپا و شمال آسیا بوده است. همان طور که نتایج پژوهش حاضر نشان داد، بیشترین مقادیر واگرایی ژنتیکی بین گونه‌های متعلق به قاره‌های مختلف (آسیا، اروپا، آمریکای شمالی) است که نشان دهنده جدایی زیاد این گونه‌ها از یکدیگر است. از سوی دیگر، گونه‌های زیرجنس *Alexandromys* که در ناحیه هولنارکتیک پراکنش دارند، منطبق با داده‌های Robovsky و همکاران (۲۰۰۸) است و بیانگر جدا افتادن این کلاد قدیمی از گونه‌های پالئارکتیک و نئارکتیک است. از طرفی، واگرایی ژنتیکی زیاد بین گونه‌های قاره‌های مختلف، می‌تواند به علت پراکنش چندین باره و جداگانه گونه‌های طایفه ول‌ها تفسیر شود (Fink et al., 2010). فواصل ژنتیکی بین گونه‌ای در برخی از ول‌ها نظیر گونه‌های: *Microtus (A). maximowiczii* (۷ درصد)، *Microtus (T). savii* و *Microtus (T). subterraneus* (۴ درصد)، بزرگتر از عدد آستانه ۴/۲ درصد پیشنهادی برای فاصله بین گونه‌ای (Jaarola et al., 2004) است. این موارد نشان دهنده گونه‌های ناهمگونی هستند که در تحلیل شبکه هاپلوטיפی شاهد گروه‌های ژنتیکی متعدد درون این گونه‌ها هستیم. این ناهمگونی ژنتیکی ممکن است بیانگر حضور گونه‌های نهانی باشد که در مطالعات ریختی شناسایی نشده‌اند. از سوی دیگر، نتایج نشان داد که برخی از گونه‌های ریختی دارای واگرایی ژنتیکی بسیار اندکی هستند (همپوشانی‌ها در شکل ۲) و در تحلیل شبکه هاپلوטיפی

بسیاری از گونه‌های این آرایه به عصر آخرین یخبندان باز می‌گردد (Chaline, 1990) و بسیاری از جمعیت‌ها هنوز در سطوح مختلف گونه‌زایی قرار دارند (Martinkova et al., 2007). در نتیجه، می‌توان غنای گونه‌ای در ول‌ها را حاصل تکه تکه شدن جمعیت اجدادی همراه با گونه‌زایی جغرافیایی پس از آن در نواحی پناهگاهی دانست (Kryštufek et al., 2009). روند گونه‌زایی سریع‌تر این آرایه، سازش آنها برای زندگی زیرزمینی، تطابق بالا با زیستگاه‌های متنوع (Musser and Carleton, 2005)، وجود صفات ریختی همگرا و گونه‌زایی خاص این جوندگان (Baker and Gatesy, 2002)، باعث شده است تا گروهی از گونه‌های بسیار جوان شکل بگیرند؛ از این رو، ما شاهد گروه‌های تبارزادی متعددی هستیم که احتمالاً می‌توانند معرف گونه‌های ناشناخته‌ای باشند که تاکنون شناسایی نشده‌اند؛ نمونه بارز این موضوع، تبارهای میتوکندریایی متعدد معرفی شده برای گونه *Microtus arvalis* (حدافل ۶ تبار) توسط پژوهشگران مختلف است (Buzan et al., 2004؛ Fink et al., 2003؛ Haynes et al., 2010). نتایج مطالعات اخیر نگارندگان بر مبنای داده‌های *Cytb* یک تبار مولکولی دیگر به گونه *M. arvalis* افزوده است که در ناحیه قفقاز تا شمال غرب ایران پراکنش دارد (Mahmoudi et al., 2014). به نظر می‌رسد این مسایل تا حدودی ناشی از سرعت بالای گونه‌زایی و جوان بودن این گروه از جوندگان باشد (Chaline, 1990). بنابراین، به نظر می‌رسد ناهمگونی موجود بین تغییرات ریخت‌شناسی، کارپولوژی و مولکولی می‌تواند در ارتباط با سرعت و مدل متفاوت تکاملی در تغییرات عنوان شده باشد (Zima et al., 2013). به طور کلی، پژوهش حاضر

است و به جز عدم دورگ‌گیری، از نظر ریخت‌شناسی تفاوتی با گونه‌های دیگر این گروه (*M. guentheri* و *M. hartingi*) نشان نمی‌دهد. در مطالعه جامعی که اخیراً توسط نگارندگان بر روی این گونه انجام شده است نتایج مطالعات مولکولی ژن *Cytb* نشان داده است که این گونه اختلاف ژنتیکی قابل توجهی با دو گونه ذکر شده دارد (تقریباً ۵/۹-۶/۲ درصد)؛ در مقابل، با گونه *M. dogramacii* (گونه خواهری آن در درخت تبارزایی) با وجود دارا بودن ریخت و کاربوتیب بسیار متمایز و فقدان دورگ‌گیری، اختلاف ژنتیکی اندکی دارد (۳ درصد) (Mahmoudi et al., 2015). به طور کلی، تعریف حد آستانه قطعی برای فواصل ژنتیکی بین گونه‌های طایفه ول‌ها نمی‌تواند منطبق بر قاعده‌ای کلی باشد و بنا به دلایل ذیل، ارتباط محکمی با شناسایی گونه‌های نهان احتمالی درون این جنس دارد:

الف) یکسان بودن و در برخی موارد، پایین بودن کمترین فاصله بین گونه‌ای در گونه‌های ریختی و فاصله ژنتیکی بین شبکه‌های هاپلو تپیی (۲ درصد)

ب) همپوشانی قابل توجه فواصل ژنتیکی درون و بین گونه‌ای در گونه‌های ریختی (شکل ۲).

ج) وجود گونه‌های ریختی تأیید شده که واگرایی ژنتیکی آنها بسیار پایین‌تر از حد آستانه ۴/۲ درصد (Jaarola et al., 2004) پیشنهاد شده است.

طایفه ول‌ها گروهی جوان هستند و محققان معتقدند که نخستین گونه‌زایی از جد مشترک طی دوره پلیوستوسن روی داده است. این دوره در تاریخ زمین‌شناسی، با دوره‌های یخبندانی متعددی همراه بوده است (Mazurok et al., 2001) که نتیجه احتمالی آن، تشکیل جمعیت‌های جغرافیایی متعدد بوده است تا حدی که برخی پژوهشگران معتقدند حتی زمان انشعاب

اجازه می‌دهد تا مفهوم ژنتیکی گونه را برای درک تنوع زیستی پستانداران به کار برد (Baker and Bradley, 2006). این موضوع، مفهوم جدیدی نیست و همراه با مفهوم زیستی و تیپولوژیک گونه (Dobzhansky, 1937)؛ (Mayr, 1942) در بین قدیمی‌ترین مفاهیم گونه قرار دارد.

سپاسگزاری

از همکاران محترم بخش پژوهشی جونده‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد که در فراهم نمودن مقدمات نمونه‌برداری و کارهای آزمایشگاهی نگارندگان را یاری نمودند صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

معرف مواردی از گونه‌های همزاد و همچنین مواردی از جمعیت‌های در حال گونه‌زایی به صورت شبه گونه‌ها و یا جغرافیایی به صورت زیرگونه‌ها است که بر اساس مطالعات ریختی قابل تشخیص نبوده‌اند و نیاز به بررسی بیشتر دارند.

Backer و Bradley (۲۰۰۱) بر اساس مطالعات مولکولی بیان کردند که احتمال می‌رود بیش از ۲۰۰۰ گونه ناشناخته از پستانداران وجود داشته باشد. آنها معتقدند که توالی‌های DNA، بیش از هر مجموعه داده دیگری، امکان وضوح چشم‌گیر برای درک وجود گونه‌ها و مرز آنها را به وجود می‌آورد. داده‌های مولکولی

منابع

- Aliabadian, M., Nijman, V., Mahmoudi, A., Naderi, M., Vonk, R. and Vences, M. (2014) ExCaliBAR: a simple and fast software utility to calculate intra- and interspecific distances from DNA barcodes. *Contributions to Zoology* 83(1): 79-83.
- Baker, R. H. and Gatesy, J. (2002) Is morphology still relevant? In: *Molecular systematics and evolution: theory and practice* (Eds. Salle, D. and Giribet, G. and Wheeler, W.) 163-174. Birkhäuser Verlag. Basel, Boston, Berlin.
- Baker, R. J. and Bradley, R. D. (2006) Speciation in Mammals and the genetic species concept. *Journal of Mammalogy* 87: 643-662.
- Bradley, R. D. and Baker, R. J. (2001) A test of genetic species concept: cytochrome b sequences and mammals. *Journal of Mammalogy* 82: 960-973.
- Brunhoff, C., Galbreath, K. E., Fedorov, V. B., Cook, J. A. and Jaarola, M. (2003) Holarctic phylogeography of the root vole (*Microtus oeconomus*): implications for late Quaternary biogeography of high latitudes. *Molecular Ecology* 12: 957-968.
- Buzan, E. V., Forster, D. W., Searle, B. J. and Kryštufek, B. (2010) A new cytochrome b phylogroup of the common vole (*Microtus arvalis*) endemic to the Balkans and its implications for the evolutionary history of the species. *Biological Journal of the Linnean Society* 100: 788-796.
- Chaline, J. (1990) An approach to studies of fossil arviculids. *International Symposium 'Evolution, Phylogeny and Biostratigraphy of Arviculids (Rodentia, Mammalia)*, Prague, Czech Republic.
- Chaline, J., Brunet-Lecomte, P., Montuire, S., Viriot, L., Courant, F. (1999) Anatomy of the arvicoline radiation (Rodentia): palaeogeographical, palaeoecological history and evolutionary data. *Annales Zoologici Fennici* 36: 239-267.
- Clement, X., Posada, D., Crandall, K. (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9: 1657-1659.
- Conroy, C. J. and Cook, J. A. (2000) Phylogeography of a post-glacial colonizer: *Microtus longicaudus* (Rodentia: Muridae). *Molecular Ecology* 9: 165-175.

- Dobzhansky, T. G. (1937) Genetics and the origin of species. Columbia University Press, New York.
- Fink, S., Excoffier, L. and Heckel, G. (2004) Mitochondrial gene diversity in the common vole *Microtus arvalis* shaped by historical divergence and local adaptations. *Molecular Ecology* 13: 3501-3514.
- Fink, S., Fischer, M. C., Excoffier, L. and Heckel, G. (2010) Genomic scans support repetitive continental colonization events during rapid radiation of voles (Rodentia; *Microtus*): the utility of AFLPs versus mitochondrial and nuclear sequences markers. *Systematic Biology* 59: 548-572.
- Galbreath, K. E. and Cook, J. A. (2004) Genetic consequences of Pleistocene glaciations for the tundra vole (*Microtus oeconomus*) in Beringia. *Molecular Ecology* 13: 135-148.
- Golenishchev, F. V., Malikov, V. G., Nazari, F., Vaziri, A. Sh., Sablina, O. V. and Polyakov, A. V. (2003) New species of vole of “*guentheri*” group (Rodentia, Arvicolinae, *Microtus*) from Iran. *Russian Journal of Theriology* 1: 117-123.
- Haynes, S., Jaarola, M. and Searle, J. B. (2003) Phylogeography of the common vole (*Microtus arvalis*) with particular emphasis on the colonization of the Orkney archipelago. *Molecular Ecology* 12: 951-956.
- Hsu, T. C. (1979) Human and Mammalian cytogenetics: an historical perspective. Springer-Verlag, New York.
- Hubby, J. L. and Lewontin, R. C. (1966) A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. The number of alleles at different loci in *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 52: 203-215.
- Jaarola, M. and Searle, J. B. (2004) A highly divergent mitochondrial DNA lineage of *Microtus agrestis* in southern Europe. *Heredity* 92: 228-234.
- Jaarola, M., Martinkova, N., Gunduz, I., Brunhoff, C., Zima, J., Nadachowski, A., Amori, G., Bulatova, N. S., Chondropoulos, B., Fragedakis-Tsolis, S., Gonzalez-Esteban, J., Lopez-Fuster, M. J., Kandaurov, A. S., Kefelioglu, H., da Luz Mathias, M., Villate, I. and Searle, J. B. (2004) Molecular phylogeny of the speciose vole genus *Microtus* (Arvicolinae, Rodentia) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetic and Evolution* 33: 647-663.
- Kryštufek, B., Buzan, V. E., Vohralik, V., Zareie, R. and Ozkan, B. (2009) Mitochondrial cytochrome b sequence yields new insight into the speciation of social voles in south-west Asia, *Biological Journal of the Linnean Society* 98: 121-128.
- Kryštufek, B., Vohralík, V., Zima, J., Koubínová, D. and Bužan, V. E. (2010) A new subspecies of the Iranian vole, *Microtu sirani* Thomas, 1921, from Turkey (Mammalia: Rodentia). *Zoology in the Middle East* 50: 11-20.
- Lewontin, R. C. and Hubby, J. L. (1966) A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. Amounts of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* 54: 595-609.
- Librado, P. and Rozas, J. (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.
- Mahmoudi, A., Darvish, J. and Aliabadian, M. (2014) New insight into phylogeography of Altai vole, *Microtus obscurus* (Arvicolinae: Rodentia) inferred from mitochondrial data. 18th National and 6th International Congress of Biology in Iran, Kharazmi University, Karaj, Iran.
- Mahmoudi, A., Darvish, J. and Aliabadian, M. (2015) Taxonomic identity of *Microtus qazvinensis* Golenishchev et al. 2003 (Rodentia, Arvicolinae) from the northwest of Iran. *Acta Theriologica* DOI 10.1007/s13364-014-0205-x.

- Martinkova, N., Zima, J., Jaarola, M., Macholan, M. and Spitzen-berger, F. (2007) The origin and phylogenetic relationships of *Microtus bavaricus* based on karyotype and mitochondrial DNA sequences. *Folia Zoologica* 56: 39-49.
- Mayr, E. (1942) Systematics and the origin of species: from the viewpoint of a zoologist. Harvard University Press, New York.
- Mazurok, N. A., Rubtsova, N. V., Isaenko, A. A., Pavlova, M. E., Slobodyanyuk, S. Y., Nesterova, T. B. and Zakian, S. M. (2001). Comparative chromosome and mitochondrial DNA analyses and phylogenetic relationships within common voles (*Microtus*, Arvicolidae). *Chromosome Research* 9(2): 107-120.
- Modi, W. S. (1987) Phylogenetic analyses of chromosomal banding patterns among the Nearctic Arvicolidae (Mammalia: Rodentia). *Systematic Zoology* 36: 109-136.
- Musser, G. G. and Carleton, M. D. (2005) Superfamily Muroidae. In: Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference (Eds. Wilson, D. E. and Reeder, D. A. M.) 2: 894-1531. John Hopkins University, Baltimore.
- Patton, J. L. (1967) Chromosomal studies of certain pocket mice, genus *Perognathus* (Rodentia: Heteromyidae) *Journal of Mammalogy* 48: 27-37.
- Robovsky, J., Ricankova, V. and Zrzavy, J. (2008) Phylogeny of Arvicolinae (Mammalia, Cricetidae): utility of morphological and molecular data sets in a recently radiating clade. *Zoologica Scripta* 37: 571-590.
- Ronquist F. and Huelsenbeck J. P. (2003) MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. and Kumar, S. (2011) MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.
- Triant, D. A. and De Woody, J. A. (2008) Molecular analyses of mitochondrial pseudogenes within the nuclear genome of arvicoline rodents. *Genetica* 132: 21-33.
- Zima, J., Arslan, A., Benda, P., Macholan, M. and Kryštufek, B. (2013) Chromosomal variation in social voles: a Robertsonian fusion in Gunther's vole. *Acta Theriologica* 58: 255-265.

Evaluating the taxonomic validity of molecular clades within tribe Arvicolini (Mammalia)

Ahmad Mahmoudi¹, Jamshid Darvish^{1,2*} and Mansour Aliabadian^{1,3}

¹Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

²Department of Rodentology Research, Institute of Applied Zoology, Faculty of Sciences,
Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

³Department of Zoological Innovations Research, Institute of Applied Zoology, Faculty of Sciences,
Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

The concept of species might be interpreted in many different ways. This has impressed both the process of introducing new species and the revision of morphological species classification. According to recent studies, about 65 morphological species have been recognized for the tribe of Arvicolini. However, molecular investigations show that some of the morphological species might not be valid and some others should be subdivided into several species. In the present study, 38 morphological species of the Arvicolini tribe inhabiting in the northern hemisphere were investigated using 823 sequences of cytochrome b gene (1140 base pairs). The research of intra-interspecific genetic distances and haplotype network analysis were carried out for dataset. The Bayesian tree demonstrated 64 haplotype networks in our data. Such results might support the validity of some of the studied morphological species and, on the other hand, might discover unknown species and thus, contribute to the integrative species concept.

Key words: Arvicolini, Cryptic species, Morpho species, Genetic species, Haplotype

* darvish@ferdowsi.um.ac.ir